

Aus dem Institut für Cytobiologie und Cytopathologie der Universität Marburg
Ehem. Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Thoenes

Zur Feinstruktur und zur Vermehrung der Mikrokörper (Microbodies) in Leber und Niere unter Clofibrat

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

H. - D. KALINA
aus Uthlede

Marburg 1975

Druck: Mauersberger, Marburg/L.



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Abgenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Universität
Marburg am 26. September 1975

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. med. K.H. Langer

Korreferent: Prof. Dr. med. W. Thoenes

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG	1
2.	TIERVERSUCH - METHODIK	3
2.1	Tierversuche	3
2.2	Aufarbeitung des Gewebes von Leber und Niere	3
2.2.1.	Elektronenmikroskopische Untersuchung	3
2.2.2.	Körper- und Organgewichte sowie lichtmikroskopische Untersuchung	4
2.3.	Metrische Bestimmungen an elektronen- mikroskopischem Bildmaterial	5
2.3.1.	Orientierende Bestimmung der Mikrokör- perzahl in der Leber	5
2.3.2.	Bestimmung der Mikrokörperdurchmesser in Leber und Niere	5
2.3.3.	Auszählung der Mikrokörperinnenstruk- turen in Leber und Niere	6
3.	ERGEBNISSE	7
3.1.	Allgemeine Befunde	7
3.2.	Lichtmikroskopische Befunde	7
3.3.	Elektronenmikroskopische Befunde der Leber	7
3.3.1	Drei Tage Clofibrat	7
3.3.2.	Zehn Tage Clofibrat	9
3.3.3.	Dreißig Tage Clofibrat	10
3.4.	Elektronenmikroskopische Befunde am proximalen Tubuluskonvolut der Niere	11
3.4.1	Drei Tage Clofibrat	11
3.4.2.	Zehn Tage Clofibrat	12
3.4.3.	Dreißig Tage Clofibrat	12
4.	DISKUSSION	14
4.1.	Zur Vermehrung der Mikrokörper	14
4.2.	Zum Verhalten des Mk-Nukleoids in der Leber	17

4.3.	Zum Verhalten der stabförmigen Ausstülpungen in der Niere	19
5.	ABBILDUNGEN, TABELLEN, GRAPHIKEN	22
6.	ZUSAMMENFASSUNG	32
7.	LITERATURVERZEICHNIS	33

1. EINLEITUNG

Mikrokörper (Microbodies, Peroxisomen, Mk), erstmals von RHODIN (1954) im Epithel des proximalen Tubulus der Mäuseniere beschrieben, wenig später von GANSLER u. ROUILLER (1956) auch in Leberparenchymzellen der Ratte gefunden, stellen eine morphologisch, histo- bzw. cytochemisch und biochemisch abzugrenzende Gruppe von Organellen dar.

Durch Modifizierung der von GRAHAM u. KARNOVSKY (1966) eingeführten DAB - Reaktion (3,3 Diaminobenzidin-Reaktion) zum cytochemischen Nachweis der peroxidatischen Aktivität der Katalase - eines der Leitenzyme der Mk - wurde es möglich, verschiedene Gewebe licht- und elektronenmikroskopisch auf ihren Katalasegehalt zu prüfen (FAHIMI 1968, 1969, NOVIKOFF u. GOLDFISCHER 1968, BEARD u. NOVIKOFF 1969). Mit dieser Methode gelang es, in den verschiedensten Geweben Katalase-positive Partikel nachzuweisen, die von der klassischen Form der Leber- und Nieren-Mk zwar abweichen, aber wahrscheinlich doch in die Gruppe der Mk gehören (KUHN 1968, PETRIK 1971, AHLABO u. BARNARD 1971, MAGALHAES u. MAGALHAES 1971, CHANG et al. 1971, BEARD 1972, REDDY u. SVOBODA 1972, HRUBAN et al. 1972, CITKOWITZ u. HOLTZ-MANN 1972, NOVIKOFF u. NOVIKOFF 1972, HAND 1973, BLACK u. BORGART 1973, BÜCK 1972, 1973).

Die Mk in Leber und Niere der Ratte sind 0,1 - 1,0 μ m große, von einer einfachen Membran umgebene Körperchen mit einer homogenen, feingranulären Innenstruktur. Charakteristikum der Leber-Mk ist das kristalline Nukleoid (HRUBAN u. SWIFT 1964, AFZELIUS 1965, SHNITKA 1966, TSUKADA et al. 1966); für die Mk des proximalen Tubulusepithels sind eigentümliche stabförmige Ausstülpungen her-

vorstechendes Merkmal (ERICSSON 1964, ERICSSON u. TRUMP 1966, MAUNSBACH 1966, TISHER et al. 1966, LANGER 1968, BEARD u. NOVIKOFF 1969).

Aus der Literatur ist bekannt, daß sich Mk in Leber und Niere unter dem Einfluß von Clofibrat (Regelan ^R), eines Cholesterin- und Triglyceridspiegel senkenden Pharmakons (THORP u. WARNING 1962, BERRY et al. 1963), vermehren, wobei eine gesteigerte Synthese der Mk-Proteine erfolgt (HESS et al. 1965, SVOBODA et al. 1967, REDDY et al. 1970, 1971, CHIGA et al. 1971, REDDY u. SVOBODA 1973).

Zahlreiche morphologische Veröffentlichungen über die Wirkung des Clofibrat auf die Leberzelle unter besonderer Berücksichtigung der Mk liegen in der Literatur vor, während sein Einfluß auf die Mk des proximalen Tubulusepithels der Niere bisher nur wenig beachtet wurde (SVOBODA et al. 1967).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich vergleichend mit Leber- und Nieren-Mk unter dem Einfluß des oben genannten Pharmakons. Insbesondere werden der Vermehrungsmodus der Mk und Veränderungen an den charakteristischen Mk-Innenstrukturen untersucht.

2. TIERVERSUCHE - METHODIK

2.1. Tierversuche

Für die Versuche dienten 12 männliche Albinoratten (Sprague-Dawley) mit einem Gewicht von 150-165 g. Die Tiere wurden in Kunststoffkäfigen gehalten und hatten zum Futter (Altromin[®]) und Trinkwasser freien Zugang.

Entsprechend der Versuchsdauer wurden drei Gruppen zu je drei Versuchstieren und je einem Kontrolltier gebildet. Ober 3, 10 bzw. 30 Tage erhielten die Versuchstiere - in Anlehnung an die Dosierung von LEGG u. WOOD (1970) - täglich 0,4 g Clofibrat⁺ pro kg Körpergewicht durch intraperitoneale Injektionen; den Kontrolltieren wurde 0,1 ml Ringerlösung/Tag über die gleichen Zeiträume intraperitoneal injiziert.

Während der Versuchszeiten zeigten die Tiere, insbesondere auch die mit Clofibrat behandelten, ein normales Aussehen und Verhalten und nahmen regelmäßig an Gewicht zu.

2.2. Aufarbeitung des Gewebes von Leber und Niere

2.2.1. Elektronenmikroskopische Untersuchung

In Äthernarkose werden nach Eröffnung des Abdomens und vorsichtiger Entfernung der Nierenkapsel die linke Niere sowie der linke vordere Leberlappen durch Betropfen mit 1%igem Osmiumtetroxyd (gelöst in 0,1 mol. Phosphatpuffer nach Sorensen; pH 7,4) über drei Minuten intravital anfixiert. Anschließend werden Niere und Leberlappen abgetrennt und die anfixierten Organoberflächen vom übrigen Gewebe als flache Scheiben abgeschält. Aus diesen werden pyramidenförmige Stückchen geschnitten, deren Basis von 1 mm Kantenlänge der (intravital anfixierten) Leber-

⁺ Für die Überlassung der öligen Reinsubstanz Clofibrat (Regelan[®]) danken wir der Fa. Rhein-Pharma, Heidelberg.

bzw. Nierenoberfläche entspricht. Weiterfixierung der Gewebspyramiden für 1 - 2 Stunden bei ca. 4°C in der gleichen Osmiumtetroxydlösung (s.o.). Nach Auswaschen in Puffer und Entwässerung über die aufsteigende Alkoholreihe Einbettung in Epon. Hierbei erfolgt das Einlegen in die Gelatine kapseln in der Weise, daß die Pyramidenbasis der Kuppe anliegt. Dieses Vorgehen ermöglicht, daß die intravital fixierten Oberflächen als erste angeschnitten werden (zur Methodik vgl. THOENES u. LANGER 1969). Da durch die Oberflächenbetropfung in situ nur ein relativ schmaler Gewebsbezirk optimal fixiert ist, werden nur 2-3 Semidünnschnitte mit dem Reichert-Mikrotom (OmU2) hergestellt, um auch für die Elektronenmikroskopie gut fixiertes Gewebe übrig zu behalten. Färbung der Semidünnschnitte mit Silbermethenamin (Niere) (MOVAT 1961) bzw. mit Toluidinblau (Leber).

Nach gezieltem Zuschneiden auf Grund des lichtmikroskopischen Vorbefundes Herstellung von Dünnschnitten; diese werden auf mit Formvar beschichteten Kupfernetzen aufgefangen und mit Uranylacetat (WATSON 1958) und Bleicitrat (REYNOLDS 1963) kontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen werden am Siemens-Elmiskop I (80 kV, Aperturblende 30 μ m) hergestellt (Primärvergrößerung: 3.500-20.000).

2.2.2. Körper- und Organgewichte sowie lichtmikroskopische Untersuchung

Zur Anpassung der Clofibrat-Dosis an die Gewichtszunahme der Tiere während der Versuchszeiten werden die Ratten täglich gewogen (Körpergewichte zu Beginn und Ende der Versuche s. Tabl. 1).

Unter Vernachlässigung der kleinen ("abgeschälten") intravital anfixierten Organbezirke wird jeweils die gesamte Leber entnommen, gewogen und zu den Körpergewichten in Beziehung gesetzt.

Lichtmikroskopie am in Paraffin eingebetteten Material:
Von Leber und von der ebenfalls entnommenen rechten
Niere werden ca. 2 mm dicke Scheiben in Carnoy oder in
gepuffertem 4%igen Formaldehyd fixiert. Färbung der
ca. 5 µm dicken Schnitte mit Hämotoxylin-Eosin,
Kresylviolett, nach Pearse und nach Goldner.

2.3. Metrische Bestimmungen an elektronenmikroskopischem Bildmaterial

2.3.1. Orientierende Bestimmung der Mikrokörperzahl in der Leber

Von je zwei Versuchstieren jeder Gruppe und zwei Kontroll-
tieren werden insgesamt 15-20 Aufnahmen von Leberzellen
mit einer Endvergrößerung von 10.000-14.000 (einige bis
30.000) ausgewertet: Tausend Anschnitte der (in der
Leberzelle überwiegend rundlich-ovalen) Mitochondrien
und die auf diesen Bildern gleichzeitig abgebildeten
Mikrokörperanschnitte werden ausgezählt und zueinander
in Beziehung gesetzt (s. Tabl. II).

Bei Nierenzellen, insbesondere bei denen der Pars
convoluta des proximalen Tubulus, ist ein Vorgehen
wie bei der Leber nicht sinnvoll, weil die in diesem
Zelltyp langgestreckten Mitochondrien mit einer apico-
basalen Vorzugsrichtung je nach Anschnittebene der Zelle
unterschiedlich häufig getroffen werden und damit für
die Morphometrie keine ausreichend konstante Bezugsgröße
darstellen. Aus diesen Gründen wurde auf eine Auswertung
in der Art, wie wir sie eben für die Leber dargestellt
haben, an der Niere verzichtet.

2.3.2. Bestimmung der Mikrokörperdurchmesser in Leber und Niere

Von jeder Versuchsgruppe werden in elektronenmikroskopischen
Bildern (Endvergrößerung 14.000-25.000) in Leber- und
Nierenepithelzellen (Niere: pars convoluta des proximalen
Tubulus) die Durchmesser von je 200 Mikrokörpern bestimmt.

Hierbei werden bei rundlich-ovalen Anschnitten zwei senkrecht aufeinander stehende, bei unregelmäßig geformten drei Durchmesser gemessen; aus den Meßwerten wird für jeden Mikrokörperanschnitt der mittlere Durchmesser errechnet (s. Fig. 1).

2.3.3. Auszählung der Mikrokörperinnenstrukturen in Leber und Niere

Leber: Von je zwei Versuchstieren pro Gruppe und von zwei Kontrolltieren werden in je 100 Mikrokörpern die Zahl der angeschnittenen Nukleole bestimmt (Endvergrößerung der Bilder 14.000-25.000).

Niere: Bei gleichem Vorgehen wie in der Leber werden hier die Stabanschnitte in den Mikrokörpern ausgezählt.

3. ERGEBNISSE

3.1. Allgemeine Befunde

Bei den Ratten, denen über einen Zeitraum von 10 und 30 Tagen Clofibrat injiziert worden war, wirkte die Leber im Vergleich zu den entsprechenden Kontrolltieren vergrößert. Die orientierenden Gewichtsbestimmungen bestätigen diesen Eindruck (Tab. I). Danach liegt das Lebergewicht bezogen auf 100 g Körpergewicht nach 10 Tagen Clofibrat um ca. 35 %, nach 30 Tagen Clofibrat um ca. 25 % über dem der jeweiligen Kontrollen.

3.2. Lichtmikroskopische Befunde

Unter dem Einfluß von Clofibrat zeigten weder Leber- noch Nierenparenchym lichtmikroskopisch auffällige Veränderungen. In der Leber fiel allerdings eine gewisse Häufung von regelhaften Mitosen auf. Auf eine vergleichende Auszählung des Mitoseindex wurde jedoch verzichtet.

3.3. Elektronenmikroskopische Befunde an der Leber

3.3.1. Drei Tage Clofibrat

Der Aufbau der Leberparenchymzellen entspricht dem der unbehandelten Tiere. Die Zellform ist polygonal, das Karyoplasma des mittelständigen Zellkerns feingranulär, und der Nukleolus ist weder vergrößert noch aufgelockert und ist normal strukturiert. Verteilung und Lage der cytoplasmatischen Bestandteile, wie die schollige Anordnung des Ergastoplasmas und die Glykogenfelder, erscheinen unverändert.

Die Mikrokörper (Mk) sind - wie bei den Kontrollen - in allen Zellbereichen anzutreffen und liegen überwiegend zwischen den Glykogenarealen einerseits und den Ergastoplasmabezirken andererseits. Obwohl ihre Verteilung

nicht von der Norm abweicht, erscheinen sie bei Betrachtung der Bilder vermehrt (Abb. 1 a). Dieser Eindruck spiegelt sich wider in dem durch Auszählung bestimmten Verhältnis Mitochondrien : Mk (Tab. II). Auf 1.000 Mitochondrienanschnitte, deren Zahl sich gegenüber denen von Kontrollen nicht verändert (vgl. HARTMANN et al. 1969), kommen im Mittel 256 Mk-anschnitte, d.h. Mitochondrien und Mk verhalten sich wie 4 : 1. Bei den Kontrollen beträgt dagegen die Relation Mitochondrien : Mk 7 : 1 (1.000 : 136); dieses Zahlenverhältnis entspricht den Angaben von BAUDHUIN et al. (1965), SVOBODA u. AZARNOFF (1966) sowie HRUBAN et al. (1966) an gleichfalls unbehandelten Ratten.

Der Durchmesser der Mk liegt normalerweise zwischen 0,1 und 0,9 μm mit einem Gipfel zwischen 0,4 und 0,6 μm (Fig. 2). Jetzt - nach dreitägiger Clofibratbehandlung - finden sich sowohl vermehrt kleine (0,1-0,3 μm) als auch einige besonders große Exemplare (bis 1,1 μm). Die Verteilungskurve läßt daher zwei Gipfel erkennen, und zwar liegt der eine bei 0,2 μm , der andere bei 0,7 μm (Fig. 2).

Was die Form der Mk anbetrifft, so ergeben sich keine Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollen. Während sich bei letzteren aber bei 45 % der Mk ein Nukleoid nachweisen läßt, ist ein solches jetzt nur noch in 36 % der Mk-anschnitte nachweisbar (Tab. II; $p < 0,1$). Die kleinen Mk (0,1 - 0,3 μm) enthalten niemals eine kristalloide Verdichtung. In ganz seltenen Fällen finden sich Mk, welche in ihrer Matrix feine streifenförmige Strukturen erkennen lassen. Diese sind deutlich von dem Nukleoid abgrenzbar.

Es sei hier vorweggenommen, daß sich gleichartige Streifenbildungen auch nach 10- und 30-tägiger Clofibratbehandlung fanden, und zwar nicht nur in den Mk der Leber, sondern auch in denen der Niere. In ihrer Feinstruktur entsprechen sie völlig denen, welche SVOBODA u. AZARNOFF (1966) ebenfalls nach Clofibrat beobachtet haben. In unseren Versuchen sind sie nur in einigen wenigen Mk nachweisbar

und damit offenbar weitaus seltener als in den Untersuchungen der o.g. Autoren. Als Erklärung für diesen Unterschied kann nur vermutet werden, daß die Art der Clofibratapplikation - intraperitoneal in unseren Versuchen, oral in denen der o.g. Autoren - eine Bedeutung für das Ausmaß der Streifenbildung haben könnte. Biochemische Aussagen über die Natur der "Streifen", welche auch unter dem Einfluß von Salicylaten in Leber- und Nieren-Mk beschrieben wurden (HRUBAN et al. 1966) und möglicherweise geschichtete Lamellen darstellen (SVOBODA u. AZARNOFF 1966, LANGER 1969), liegen bisher nicht vor.

Die enge Nachbarschaft von Cisternen des endoplasmatischen Retikulums und Mk (vgl. SVOBODA u. AZARNOFF 1966) ist erhalten. Kontinuierliche Verbindungen zwischen beiden lassen sich nicht nachweisen.

3.3.2. Zehn_Tage_Clofibrat

Zu diesem Zeitpunkt ist eine gewisse Auflockerung der scholligen Ergastoplasmabezirke erkennbar: Die sonst regelmäßige Profilschichtung ("organisiertes Ergastoplasma") ist fast völlig aufgehoben; einzelne oder wenige nebeneinanderliegende Cisternen verlaufen geschlängelt zwischen relativ dicht beieinander liegenden Mitochondrien und Mk (Abb. 1 b).

Die Mk sind jetzt deutlicher vermehrt: auf 1.000 Mitochondrien kommen 357 Mk, was einem Verhältnis (Mitochondrien : Mk) von ca. 3 : 1 entspricht (Tab. II). Gegenüber der dreitägigen Clofibratbehandlung sind die Mk nunmehr variabler geformt (Abb. 1 b). Die Durchmesserbestimmungen lassen erkennen, daß die kleinen Mk zugunsten der größeren Exemplare im Verteilungsmuster zurücktreten. Dementsprechend ergibt sich wieder eine eingipflige Verteilungskurve, wobei die dominierenden Durchmesser zwischen 0,5 und 0,7 μm liegen und damit gegenüber der Norm leicht nach rechts verschoben sind (Fig. 2).

Die Nukleole finden sich jetzt stark vermindert und überdies auch erheblich verkleinert; nur noch in 15,5 % der Mk-anschnitte sind sie erkennbar (Tab. II; $p < 0,02$).

Auffällig zu diesem Untersuchungszeitpunkt ist, daß sich - wenn auch nur in einzelnen Fällen - direkte Verbindungen zwischen Mk und Cisternen des endoplasmatischen Reticulum nachweisen lassen, d.h. Mk-Matrix und Binnenraum einer Cisterne gehen kontinuierlich ineinander über. In diesen Fällen findet sich in beiden Räumen ein gleicher elektronendichter Inhalt.

3.3.3. Dreißig Tage Clofibrat

Die nach 10-tägiger Clofibratbehandlung beschriebene "Dissoziation" des Ergastoplasmas läßt sich auch jetzt nachweisen (Abb. 1 c). Zwischen den einzelnen Profilen, insbesondere aber auch in den glykogenhaltigen Arealen, sind die Mk stark vermehrt (Tab. II): auf 1.000 Mitochondrien kommen 522 Mk, d.h. die Relation Mitochondrien : Mk beträgt jetzt 2 : 1; einzelne Zellen weisen in der Schnittebene sogar mehr Mk als Mitochondrien auf (vgl. Abb. 1 c).

Die Form der Mk entspricht der nach 10-tägiger Clofibratapplikation; die meisten Mk-Durchmesser liegen bei $0,6 - 0,8 \mu\text{m}$ (Fig. 2). Nukleole stellen sich - wenn überhaupt - lediglich als uncharakteristische Verdichtungen dar; nur in ca. 6 % der Mk ist ein solches "Nukleoid" im Schnitt getroffen (Tab. II, $p < 0,01$).

Die nach 10 Tagen Clofibrat erstmals nachweisbaren Verbindungen der Mk zu Cisternen des endoplasmatischen Reticulums finden sich vereinzelt auch jetzt. - Darüber hinaus lassen sich auch Befunde erheben, nach denen einzelne Mk untereinander in Verbindung zu stehen scheinen (Abb. 3 e, f).

3.4. Elektronenmikroskopische Befunde am proximalen Tubuluskonvolut der Niere

3.4.1. Drei Tage Clofibrat

Mikrokörper (Mk) sind - wie bei den Kontrolltieren und in Übereinstimmung mit den aus der Literatur bekannten Angaben (ERICSSON 1964, ERICSSON et al. 1965, ERICSSON u. TRUMP 1966, TISHER et al. 1966, MAUNSBACH 1966, LANGER 1968) in allen Zellbereichen im Epithel des proximalen Tubulus anzutreffen, überwiegend liegen sie allerdings in den basalen Zellabschnitten und hier häufig in kleinen Gruppen.

Diese Verteilungsform hat sich nach 3-tägiger Versuchszeit praktisch nicht geändert, obwohl die Mk gegenüber der Norm leicht vermehrt erscheinen (Abb. 2 a). Ihre Durchmesser entsprechen im wesentlichen denen der Kontrollen (Fig. 2), und auch ihre Form zeigt keine Besonderheiten. Indessen fällt auf, daß die für die Nieren-Mk charakteristischen Granula-Zylinder in der Matrix bzw. die stabförmigen Ausstülpungen im Vergleich zu den Kontrollen wesentlich geringer angetroffen werden.

Gleiches gilt auch für die stabförmigen Gebilde, welche ohne erkennbare Zuordnung zu einem Mk getroffen sind; in deutlichem Gegensatz zu dem seltenen Vorkommen dieser (längsgetroffenen) Stäbe steht der Befund, daß Stabquerschnitte, d.h. kreisrunde Gebilde von ca. 0,1 μm Durchmesser mit den typischen Granula unter der Hüllmembran ungewöhnlich reichlich vorkommen (Abb. 2 c, d). Häufig liegen sie dicht nebeneinander und zeigen gewisse Formabwandlungen, die in den Abb. 2 c, d wiedergegeben sind. Vielfach sind diese Ringformen miteinander bzw. mit einem unmittelbar benachbarten Mk verbunden.

Was die Beziehungen der Mk zum endoplasmatischen Reticulum anbetrifft, so lassen sich - im Gegensatz zu den Befunden

an der Leber zum gleichen Zeitpunkt - direkte Übergänge zwischen beiden nachweisen (Abb. 3 b-d). Auch finden sich gelegentlich kontinuierliche Verbindungen zwischen zwei benachbarten Mk, wobei häufig der eine normal groß, der andere aber deutlich kleiner erscheint (vgl. Abb. 3 g, h).

3.4.2. Zehn_Tage_Clofibrat

Zu diesem Untersuchungszeitpunkt erscheinen die Mk deutlich vermehrt. Wie die Verteilungskurve zeigt (Fig. 2), liegen dabei die mittleren Durchmesser zwischen 0,3 und 0,5 μm . Bei der überwiegenden Zahl der Mk lassen sich stabförmige Ausstülpungen bzw. granuläre Zylinderformen (in der Mk-Matrix selbst) nicht mehr nachweisen. Das vermehrte Vorkommen von "freien" Stabquerschnitten, welches nach 3 Tagen Clofibrat festzustellen war, ist nach 10-tägiger Behandlung nicht mehr erkennbar; sie finden sich jetzt in etwa der gleichen Häufigkeit wie bei den Kontrollen. Dagegen sind längsgetroffene "freie Stäbe" - im Gegensatz zu den Kontrollen und in Übereinstimmung mit den Befunden nach 3 Tagen Clofibrat - praktisch nicht mehr nachweisbar.

3.4.3. Dreißig_Tage_Clofibrat

Die Mk finden sich - wie bei den bisher beschriebenen Tiergruppen - zwar auch jetzt hauptsächlich in den basalen Zellabschnitten, doch können sie nun auch in großer Zahl in den übrigen Cytoplasmaregionen, die apicalen eingeschlossen, gesehen werden; d.h., die Vermehrung der Mk hat noch weiter zugenommen (Abb. 2 b). Eine Vielzahl dieser Mk zeigt nicht mehr die normale rundlich-ovale Form, sondern man sieht jetzt auch ganz unregelmäßig und z.T. bizarr geformte Gebilde. Die Größe der Mk insgesamt entspricht etwa derjenigen nach 10 Tagen Clofibrat;

allerdings haben die kleineren Exemplare (um $0,2\ \mu\text{m}$) weiter zugenommen (Fig. 2).

Häufiger als nach kürzerer Clofibrateinwirkung sieht man Verbindungen zwischen zwei benachbarten Mk (vgl. Abb. 3 g, h), Auch hier überwiegen solche zwischen einem großen und einem kleinen Mk, aber auch gleichgroße Exemplare weisen gelegentlich eine schmale, brückenartige Verbindung zueinander auf. Granuläre Stabzylinder in der Mk-Matrix, stabförmige Ausstülpungen wie auch "freie" Stäbe (in Längs- und Querschnitten) fehlen, von seltenen Ausnahmen abgesehen, völlig (Abb. 2 b).

Ebenso wie nach 3 bzw. 10 Tagen Clofibrat finden sich gelegentlich direkte Übergänge zwischen Mk und endoplasmatischem Retikulum (vgl. Abb. 3 b-d); diese Verbindungen ähneln denen, die in der Leber erst nach 10 Tagen Clofibrat nachweisbar waren (vgl. 3.3.2.).

4. DISKUSSION

Aus experimentellen Untersuchungen mit Clofibrat ist bekannt, daß die Mikrokörper (Mk; Microbodies bzw. Peroxisomen) unter dem Einfluß des Plasmalipid-senkenden Pharmakons in Leber und Niere vermehrt auftreten und daß darüber hinaus auch Form- und Matrixveränderungen an bzw. in den Mk beobachtet werden (HESS et al. 1965, STÄUBLI u. HESS 1966, SVOBODA u. AZARNOFF 1966, 1967, SVOBODA et al. 1967, REDDY et al. 1969 a, b, LEGG u. WOOD 1970 u.a.). Allerdings ist bisher ungeklärt, wodurch die Mk-Veränderungen hervorgerufen werden. Ein direkter Clofibrat-Einfluß ist unwahrscheinlich, da Clofibrat bei experimenteller Pfortaderperfusion selbst in hoher Konzentration nicht in die Leberzelle aufgenommen wird (PLATT u. THORP 1966). Auch die lipidsenkende Wirkung des Clofibrat scheint nicht Ursache der Mk-Veränderungen zu sein; denn die Mk werden in gleicher Weise verändert, wenn dieser spezifische Clofibrat-effekt durch Thyreoidektomie aufgehoben wird (BEST u. DUNCAN 1964, SVOBODA et al. 1969, AZARNOFF u. SVOBODA 1969, REDDY et al. 1970).

Aus der Vielfalt der durch Clofibrat an den Mk ausgelösten Befunde sollen hier zwei Gesichtspunkte im Vordergrund der Erörterung stehen:

1. die Vermehrung der Mk
2. die Veränderungen an den jeweils charakteristischen Mk-Strukturen, nämlich an den Nukleoiden (Leber) und den stabförmigen Ausstülpungen (Niere).

4.1. Zur Vermehrung der Mikrokörper (Mk)

Bei gleichzeitiger Untersuchung von Leber und Niere, wie sie bisher nur SVOBODA et al. (1967) und SVOBODA u. AZARNOFF (1967) durchgeführt haben, zeigt sich - neben den in Fig. 2 dargestellten Größenveränderungen - eine

mit der Versuchsdauer (3, 10, 30 Tage) zunehmende Vermehrung der Mk. Während diese im Epithel des proximalen Nierentubulus aus methodischen Gründen (s. 2.2.1.) lediglich durch den bildmäßigen Eindruck wiedergegeben werden kann (vgl. Abb. 2 a, b), spiegelt sich die Vermehrung im Leberparenchym (vgl. Abb. 1) auch wider in dem sich zugunsten der Mk ändernden Verhältnis Mk : Mitochondrien (vgl. Tab. II), so daß beide Organellen zahlenmäßig schließlich nahezu gleichstark in den Zellen vertreten sind.

Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen zum Verhalten bisher bekannter Enzyme der Leber-Mk (Uratoxydase, D-Aminosäurenoxidase, L- α -Hydroxysäurenoxidase, Katalase, Isocitratdehydrogenase) unter Clofibrat - die Enzyme der Nieren-Mk wurden in diesem Zusammenhang bisher nicht untersucht - ergibt sich folgendes Bild: Clofibrat steigert die Proteinsynthese in der Leber (PLATT u. THORP 1966). Von den bisher identifizierten Proteinen der Mk-Matrix wurden unter Clofibrat Katalase (REDDY et al. 1971) und Isocitratdehydrogenase (PLATT u. COCKRILL 1966) vermehrt, L- α -Hydroxysäurenoxidase und D-Aminosäurenoxidase dagegen vermindert gefunden (SVOBODA u. AZARNOFF 1966, 1969). Uratoxydase, das einzige bekannte Enzym des Nukleoids, ist gleichbleibend oder gering vermindert (STAUBLI u. HESS 1966, SVOBODA u. AZARNOFF 1966). Die gesteigerte Synthese der Katalase und der Isocitratdehydrogenase kann jedoch nicht allein für die Vergrößerung des Mk-Volumens pro Zelle und der damit verbundenen zahlenmäßigen Vermehrung der Mk verantwortlich sein, da die Isocitratdehydrogenase unter Clofibrat nur gering gesteigert ist (PLATT u. COCKRILL 1966) und eine Zunahme des Mk-Volumens pro Zelle auch nach Hemmung der Katalasesynthese durch Allylisopropylacetamid auftritt (REDDY et al. 1970, LEGG u. WOOD 1970). Möglich erscheint daher, daß der Clofibrateffekt auf die Mk auf einer gesteigerten Synthese bisher unbekannter bzw. nicht enzymatisch wirksamer Mk-Proteine beruht (REDDY et al. 1970, LEGG u. WOOD 1970), die auch normalerweise ca. 1/2 bis 2/3 der Mk-Proteine ausmachen (LEIGHTON et al. 1969). Diese Vorstellung wird durch die Aufhebung des Mk-Vermehrungseffektes des Clofibrat durch Chloramphenicol oder Cykloheximid - welche als generelle Proteinsynthesehemmer gelten - unterstützt (SVOBODA et al. 1967, REDDY et al. 1970).

Vom morphologischen Standpunkt ist - ungeachtet der aufgezeigten Ergebnisse und Probleme auf dem biochemischen Sektor -

von Interesse, auf welche Art und Weise die Vermehrung der Mk zustandekommt. Hier stehen sich gegenwärtig zwei Auffassungen gegenüber:

1. Auf Grund morphologischer (z.B. HRUBAN et al. 1963, HRUBAN u. SWIFT 1964, NOVIKOFF u. SHIN 1964, SVOBODA u. AZARNOFF 1966, ESSNER 1967, SVOBODA et al. 1967, TSUKADA et al. 1968, REDDY u. SVOBODA 1971, NOVIKOFF u. NOVIKOFF 1972, REDDY u. SVOBODA 1973, NOVIKOFF et al. 1973) und biochemischer (HIGASHI u. PETERS 1963, POOL et al. 1970 a, b) Untersuchungen wird angenommen, daß die Mk aus dem endoplasmatischen Reticulum (ER) entstehen.
2. Ein anders gearteter Bildungsmechanismus wird von WOOD (1969), LEGG u. WOOD (1970 a b), WOOD u. LEGG (1970) sowie von FAHIMI u. VENKATACHALAM (1970) vertreten: Bildung von Mk durch Teilung bzw. Sprossung; d.h. die Mk werden als autonome Organellen aufgefaßt.

Beide der genannten Auffassungen können aus unseren Untersuchungen abgeleitet werden, und zwar sowohl an Leber- wie auch an Nieren-Mk: Während die Abb. 3 a-d eine Neuentstehung der Mk aus glatten endoplasmatischen Cisternen nahelegen, können die Abb. 3 e-h als Teilungsstadien von Mk interpretiert werden. Geht man von diesem Tatbestand aus, so stellt sich die Frage, ob beide Vermehrungsmechanismen gleichrangig nebeneinander existieren oder ob aus den Befunden eine Vorrangigkeit des einen oder anderen Vermehrungsmodus abgeleitet werden kann. Folgendes erscheint in diesem Zusammenhang wichtig: Direkte Verbindungen zwischen Mk und ER traten unabhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung (3, 10, 30 Tage) auf, und zwar sowohl in der Leber (Abb. 3 a) als auch in der Niere (Abb. 3 b-d). In solchen Fällen sind die Mk in der Regel kleiner, als sie normalerweise angetroffen werden. Es ist nun auffällig, daß nach 3 Tagen Clofibrat eine zweigipflige Kurve in der Größenverteilung der Leber-Mk auftritt und daß damit kleine Mk einen größeren Anteil innerhalb der Gesamtpopulation ausmachen (Fig. 2). Beide Phänomene - die erhöh-

te Zahl kleiner Mk bei einsetzender Vermehrung der Mk unter Clofibrat sowie die Verbindung kleiner Mk mit endoplasmatischen Cisternen - sprechen u.E. dafür, daß zumindest in einer ersten Phase Mk vom ER gebildet werden, d.h. daß die Neubildung von Mk aus dem ER zunächst als der vorrangige Vermehrungsmechanismus anzusehen ist. Demgegenüber treten die als Teilungsfiguren aufgefaßten Verbindungen der Mk untereinander zumindest in der Leber erst nach längerer Clofibratwirkung auf (vgl. Abb. 3 e), und zwar insbesondere bei relativ großen Mk. Wir möchten daher die durch Teilung herbeigeführte Vermehrung als einen von der Größe der Mk abhängigen Teilungsmechanismus und damit als eine sekundäre Reaktion auffassen,⁴ die möglicherweise für die Funktion der Mk (Volumen-Oberflächen-Relation) bedeutsam ist. - Daß es sich bei den Mk-Verbindungen tatsächlich um Teilungs- und nicht um Verschmelzungsphänomene handelt, legen die Querschnittsmessungen an Mk nahe; denn überdurchschnittlich große Mk, welche bei einer Verschmelzung von Mk zu erwarten wären, traten während der verschiedenen Untersuchungszeiten nicht auf (vgl. Fig. 2).

4.2. Zum Verhalten des Nukleoids in den Mikrokörpern der Leber

Das kristalloide Nukleoid stellt ein von der übrigen Matrix gut abgrenzbares, charakteristisches Element der Leber-Mk dar; bei der Spezies Ratte zeigt es eine in bestimmter Weise angeordnete röhrenförmige Substruktur (vgl. HRUBAN u. SWIFT 1964, AFZELIUS 1965, TSUKADA et al. 1966, SHNITKA 1966).

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen kann als erwiesen gelten, daß in den Leber-Mk dann ein Nukleoid bzw. ein dem Nukleoid ähnliches Äquivalent nachweisbar ist, wenn eine Spezies als harnpflichtige Substanz überwiegend Allantoin ausscheidet. Biochemisch ist gesichert, daß in den Nukleoiden Uratoxidase lokalisiert ist, welche den aus dem Purinstoffwechsel stammenden Harnstoff in Allantoin überführt. Fehlt dieses Enzym, dann ist auch in den Leber-Mk kein

Nukleoid nachweisbar, und eine solche Spezies - hierzu gehören u.a. auch die anthropoiden Affen und der Mensch - scheidet vorzugsweise Harnsäure aus (AFZELIUS 1965, SHNITKA 1966, Lit. S. HRUBAN u. RECHCIGL 1969).

In Übereinstimmung mit ähnlichen Beobachtungen von HESS et al. (1965), STÄUBLI u. HESS (1966) sowie SVOBODA u. AZARNOFF (1966) kommt es unter der Einwirkung von Clofibrat zu einem ausgeprägten Schwund der nukleoiden Struktur der Mk (vgl. Abb. 1), welche nach Ausweis des Zahlenverhältnisses Nukleoid pro Mk mit der Versuchsdauer zunimmt (vgl. Tab. II). Die (neugebildeten) kleinen Mk weisen niemals ein Nukleoid auf. Die Befunde stehen in gewissem Gegensatz zu biochemischen Ergebnissen, nach denen die Urat-oxidase unter Clofibrat in ihrer Aktivität nur gering vermindert bzw. gleichbleibend gefunden wurde (AZARNOFF u. TUCKER 1965, SVOBODA u. AZARNOFF 1966, STÄUBLI u. HESS 1966). Als Erklärung für diese Diskrepanz lassen sich die folgenden Überlegungen anführen: 1. Unter der Einwirkung von Clofibrat neugebildete Mk haben möglicherweise noch keine nukleoiden Strukturen. Diese Interpretation stände in Analogie zu den Beobachtungen von TSUKADA et al. (1968) in der Perinatalperiode, in der Mk vermehrt auftreten und zumeist ebenfalls (noch) kein Nukleoid aufweisen. 2. Veränderungen der Mk-Protein- bzw. Enzym-Zusammensetzung könnten das Nukleoid maskieren. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß sich die Mk-Matrix während der Clofibrateinwirkung in der Regel deutlich elektronendichter darstellt als normalerweise (Kontrastierung mit Uranylacetat/Bleicitrat) - ein Befund, den wir vorerst nicht erklären können. 3. Schließlich wäre denkbar, daß die Uratoxidase unter Clofibrat nicht mehr in kristalliner, sondern in löslicher Form vorliegt. Diese Vorstellung knüpft an die älteren Ergebnisse von DE DUVE u. BAUDHUIN (1966) an, nach denen Uratoxidase auch in der Mk-Matrix und an der Mk-Membran lokalisiert ist. - Die aufgezeigten und sich möglicherweise ergänzenden Ursachen für den Nukleoid-Schwund in den Leber-

Mk unter Clofibrat würden die morphologischen und biochemischen Befunde in Einklang bringen; ein endgültiger Beweis kann aber erst durch die Kombination morphologisch-biochemischer Untersuchungsmethoden erbracht werden.

4.3. Zum Verhalten der stabförmigen Ausstülpungen in der Niere

Als ein besonderes Charakteristikum der Nieren-Mk sind eigentümliche stabförmige Ausstülpungen (ERICSSON 1964, ERICSSON u. TRUMP 1966, MAUNSBACH 1966, LANGER 1968) anzusprechen, welche normalerweise in der Pars convoluta, weniger häufig in der Pars recta des proximalen Tubulus gefunden werden (BEARD u. NOVIKOFF 1969, LANGER 1969) und auch in der Niere des Menschen vorkommen (TISHER et al. 1966). Sie sind zu charakterisieren als bis zu $1,5\text{ }\mu\text{m}$ lange, zylinderförmige Gebilde von $0,1\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser, unter deren Hüllmembran ein granulärer Zylinder (Granula-Durchmesser ca. $50\text{ }\text{\AA}$) ausgebildet ist; letzterer läßt sich bei geeigneter Schnittrichtung in die Matrix des Mk hinein verfolgen. Es wird angenommen, daß sich die "Stäbe" aus der Mk-Matrix in bestimmter Weise bilden und zu zylinderförmigen Ausstülpungen auswachsen. Ob sich die zylindrisch geformten Ausstülpungen schließlich von den Mk abtrennen und dann als "freie Stäbe" im Cytoplasma vorliegen, kann aus schnittechnischen Gründen vorerst nicht beantwortet werden, (vgl. ERICSSON u. TRUMP 1966, LANGER 1968). Die funktionelle Bedeutung der eigentümlichen Stabformen ist bisher ungeklärt.

Es sei angemerkt, daß vergleichbare Stabformen unter bestimmten experimentellen Bedingungen auch in den Mk der Leber (HRUBAN et al. 1966) beobachtet wurden und außerdem in Körperchen der Leydigischen Zwischenzellen des Rattenhodens, welche wegen des positiven Ausfalls der Diaminobenzidin-Reaktion für Mk gehalten werden (REDDY u. SVOBODA 1972, 1973, REDDY et al. 1973).

Unter Clofibrat kommt es nach unseren Untersuchungen zu einer mit der Versuchsdauer zunehmenden Verminderung der stabförmigen Gebilde, und nach 30 Tagen sind praktisch keine "Stäbe" mehr nachweisbar (vgl. Tab. II); d.h. Clofibrat hemmt offenbar die Stabbildung in den Mk des proximalen Nierentubulus.

Ein weiterer Effekt des Pharmakons läßt sich an bereits ausgebildeten Stabformen nachweisen. Hier sind die Befunde nach 3 Tagen Clofibrat von besonderem Interesse. Zu diesem Zeitpunkt ergibt sich nämlich eine eigentümliche Diskrepanz im Vorkommen von längs- und quergetroffenen "Stäben": Während erstere im Vergleich zur Norm bereits seltener angetroffen werden, sind letztere in relativ großer Zahl und überdies häufig dicht nebeneinanderliegend nachweisbar (vgl. Abb. 2 c, d).

Der letztere Befund ist insofern ungewöhnlich, als Stabquerschnitte in Normalbildern erwartungsgemäß nur selten auftreten; berücksichtigt man nämlich, daß die "Stäbe" keine Vorzugsrichtung innerhalb der Zelle erkennen lassen und daß ihr Querdurchmesser ($0,1\ \mu\text{m}$) im Vergleich zur Länge (bis zu $1,5\ \mu\text{m}$) mindestens um den Faktor 10 kleiner ist, so finden sich unter normalen Bedingungen längs- bzw. schrägangeschnittene "Stäbe" um ein vielfaches häufiger als quergetroffene.

In Kenntnis der vorgenannten Normalbefunde führt die große Zahl quergetroffener Stäbe nach 3 Tagen Clofibrat zu der Annahme, daß es sich bei den ringförmigen Strukturen in Wirklichkeit um der Kugelform angenäherte Gebilde handelt mit dem charakteristischen Merkmal der "Stäbe", d.h. unter der Hüllmembran finden sich auch hier Granula in typischer Weise angeordnet. Auf Grund der Tatsache, daß die Kugelformen 1. nach 3 Tagen Clofibrat zahlreich, nach 10 Tagen sehr viel weniger und nach 30 Tagen praktisch nicht mehr auftreten und daß sie 2. relativ häufig zu mehreren nebeneinanderliegen, möchten wir vermuten, daß (vor Versuchsbeginn existente)

stabförmige Ausstülpungen unter der Einwirkung von Clofibrat gleichsam zerbrechen und daß die einzelnen Bruchstücke ("Stabäquivalente") dann zu Kugelformen umgewandelt werden. Über das weitere Schicksal der Stabäquivalente, welche nach 30 Tagen Versuchszeit nicht mehr nachweisbar sind, haben wir keine Anhaltspunkte; eine lysosomale Verdauung konnte jedenfalls nicht nachgewiesen werden. Denkbar wäre, daß sie sich frei im Grundplasma auflösen - eine Überlegung, welche in Analogie zu Beobachtungen von SVOBODA u. REDDY (1972) steht; danach können sogar Leber-Mk frei im Cytoplasma abgebaut werden, wenn sich ihre Zahl nach Absetzen von Clofibrat binnen weniger Tage zur Norm reduziert.

Zusammenfassend kann damit ein zweifacher Clofibrat-effekt festgehalten werden: (1) Vorgebildete "Stäbe" werden fragmentiert und abgebaut, und (2) neue "Stäbe" werden nicht mehr gebildet. Es zeigt sich also an den stabförmigen Ausstülpungen - dem Charakteristikum der Nieren-Mk - eine besondere Clofibratwirkung, über deren funktionelle Bedeutung zunächst keine Aussagen gemacht werden können.

Abb. 1: Zur Vermehrung der Mikrokörper (Mk) in der Leber nach Clofibrat: a Nach 3 Tagen Mk leicht vermehrt, überwiegend zwischen glykogenhaltigen (Glyk) und ergastoplasmahaltigen (rER) Arealen; $\longrightarrow$ kleine Mk. b Nach 10 Tagen deutliche Mk-Vermehrung und -Vergrößerung; die Mk z.T. unregelmäßig geformt ($\longrightarrow$). Neben normal erscheinenden Ergastoplasmaregionen häufig auch lediglich einzelne Profile ($\longrightarrow$) zwischen Mitochondrien bzw. Mk. c Nach 30 Tagen ausgeprägte Vermehrung der Mk (Verhältnis Mitochondrien : Mk wie 2 : 1); $\longrightarrow$ einzelne Profile des rER.
a - c Uranylacetat/Bleicitrat, 8700 : 1

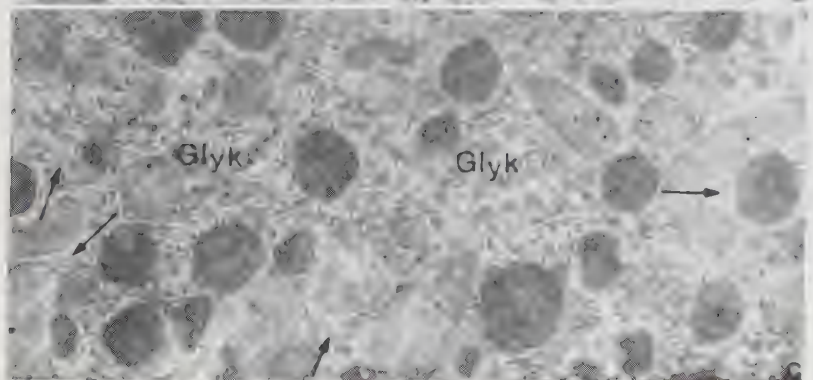
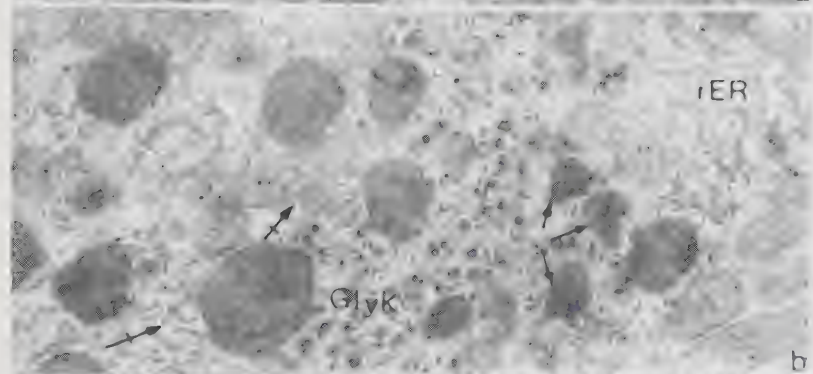
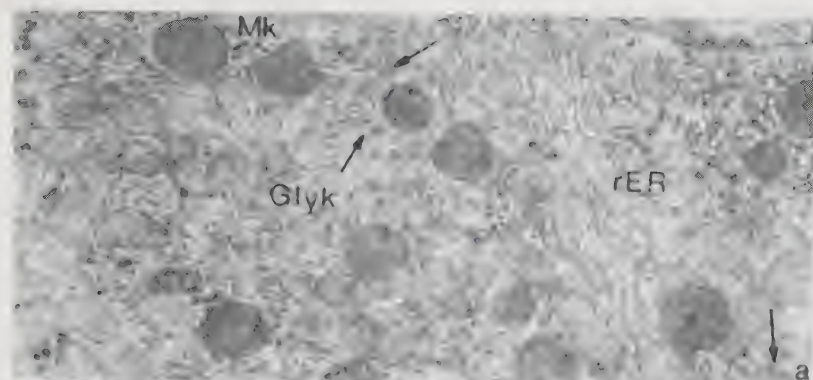


Abb. 2 a, b: Zur Vermehrung der Mikrokörper (Mk) in der Niere nach Clofibrat: Nach 3 Tagen (a) größere Mk-Anhäufungen (+) überwiegend in basalen Zellabschnitten, nach 30 Tagen (b) dichte Mk in nahezu allen Zellregionen. Hier Auftreten von unregelmäßigen Formen sowie von zahlreichen kleineren Exemplaren; EW Eiweiß"tropfen" (lytische Vakuolen).

c, d: "Stabäquivalente" (St) im Cytoplasma, z.T. mit Mk (—→) bzw. untereinander (—+→) verbunden. Inset in d: Vergleich zwischen noch erhaltenen Stabformen (rechts) und St (—→); nähere Erklärung s. Text.

a - d Uranylacetat/Bleicitrat. a, b 7500 : 1, c 30500 : 1, d 19450 : 1, Inset 22600 : 1.

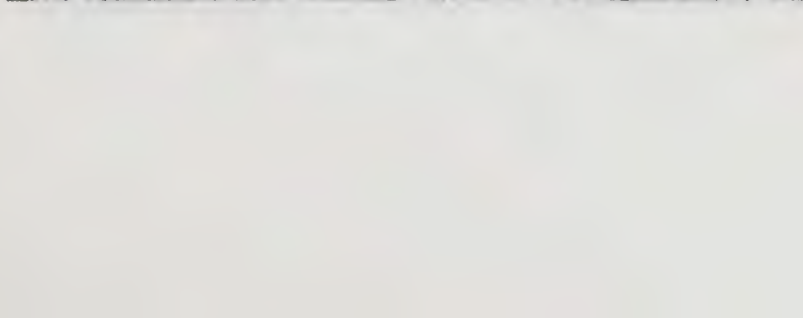
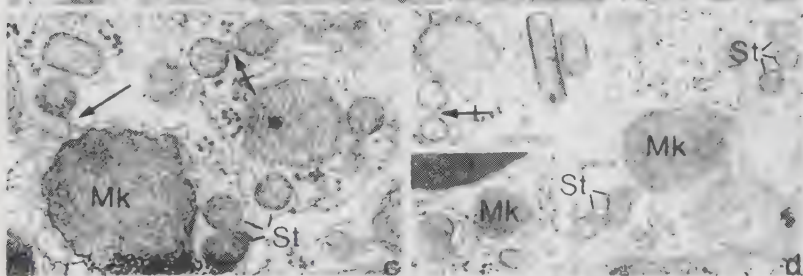
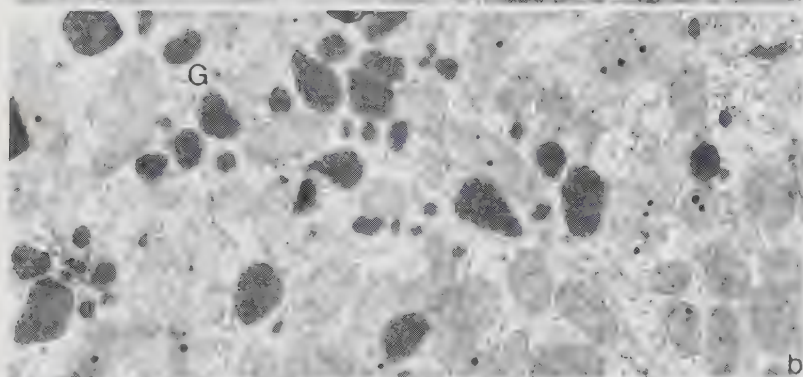
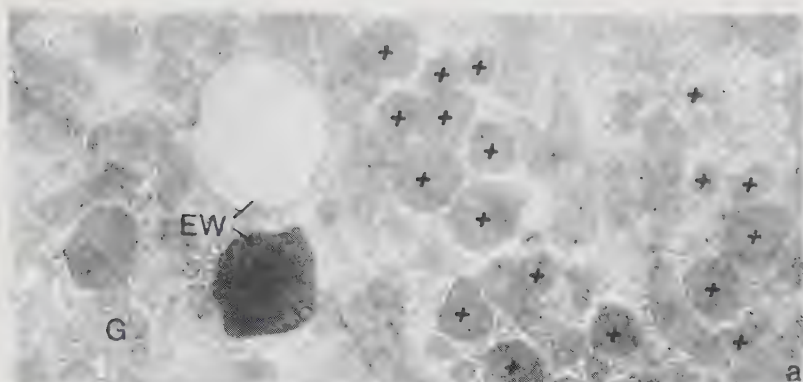
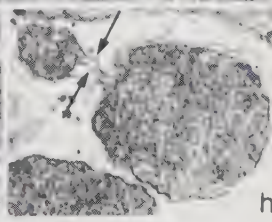
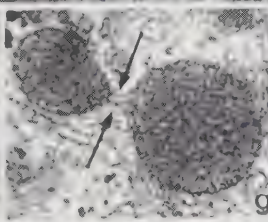
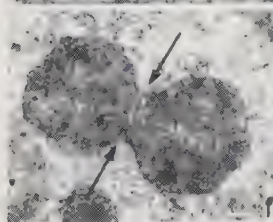
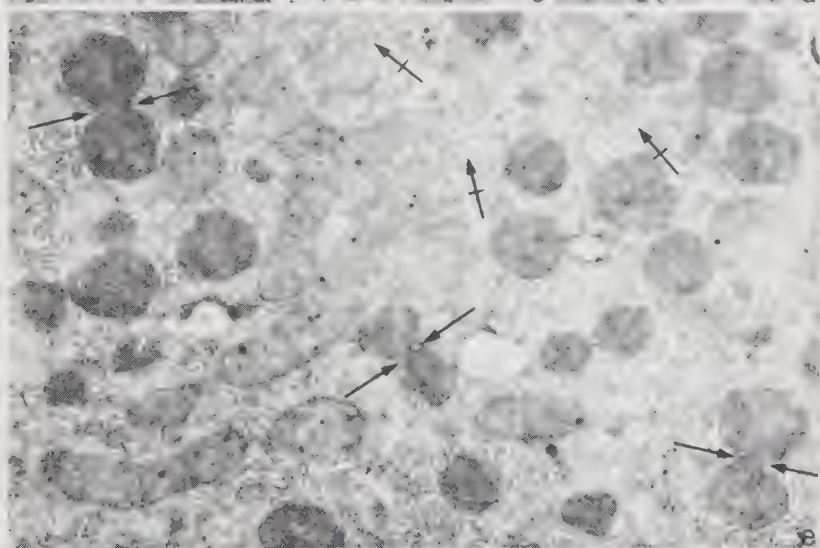
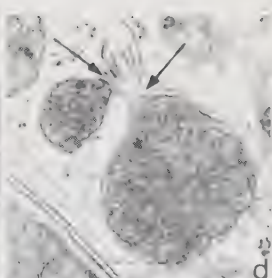
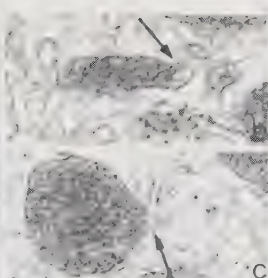
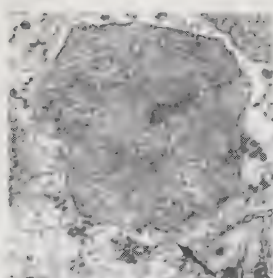


Abb. 3: Zum Vermehrungsmodus der Mikrokörper (Mk) in Leber und Niere unter Clofibrat: a - d Mögliche Neubildung der Mk aus einzelnen Profilen des endoplasmatischen Retikulums (ER); $\longrightarrow$ Übergänge Mk - ER. e - h Direkte Übergänge zwischen nebeneinanderliegenden Mk ($\longrightarrow$, gedeutet als Teilungsstadien). In e nur noch einzelne rauhe endoplasmatische Cisternen ($\dashrightarrow$) bzw. Fehlen größerer Ergastoplasmaregionen (nach 30 Tagen Clofibrat). a, e, f Mk in der Leber, b - d, g, h Mk in der Niere.

a - h Uranylacetat/Bleicitrat. a 31250 : 1,
b 28000 : 1, c 34000 : 1, d 32500 : 1,
e 9600 : 1, f 14250 : 1, g 26700 : 1,
h 30500 : 1.



Versuchs- dauer (Tage)	KG Va	KG Ve	Lebergewichte			
			Ko	Vt	g/ 100g KG	%Kontrolle
3	155	175				
	150	170				
	150	170				
	155	175				
10	160	215	10,5		4,9	
	155	205			6,6	
	155	205			6,6	
	150	205			6,6	
30	160	305	13,5		4,4	
	165	320			5,6	
	165	310			5,4	
	165	305			5,5	

Tabelle I Körper- und Lebergewichte.

Alle Gewichtsangaben (Spalte 2-5) in g .

KG : Körpergewicht ; Va : Versuchsbeginn ; Ve : Versuchsende ;

Ko : Kontrolltier ; Vt : Versuchstier

		Kontrolle	3 Tage	10 Tage	30 Tage
LEBER	Mk/ 1000Mito	136(122,150) (1:7,2)	256(243,269) (1:3,9)	357(349,365) (1:2,8)	522(516,528) (1:1,9)
	Nk/ 100Mk	45(43,47)	36(38,34)	15,5(18,13)	6(4,8)
p (Nk Kontrolle - Versuchtiere)		< 0,1		< 0,02	< 0,01
NIERE	St/ 100Mk	95(102,87)	60(66,54)	5(3,7)	1,5(1,2)
p (St Kontrolle - Versuchtiere)		< 0,1		< 0,01	< 0,01

Tabelle II Mikrokörperanschnitte (Mk) in der Leber im Verhältnis zu Mitochondrien (Mito) und Mikrokörperinnenstrukturen in Leber (Nukleoid = Nk) und Niere (Stäbe = St) unter Clofibrat (Mittelwerte, in Klammern Werte pro Tier).

p : Student - Test

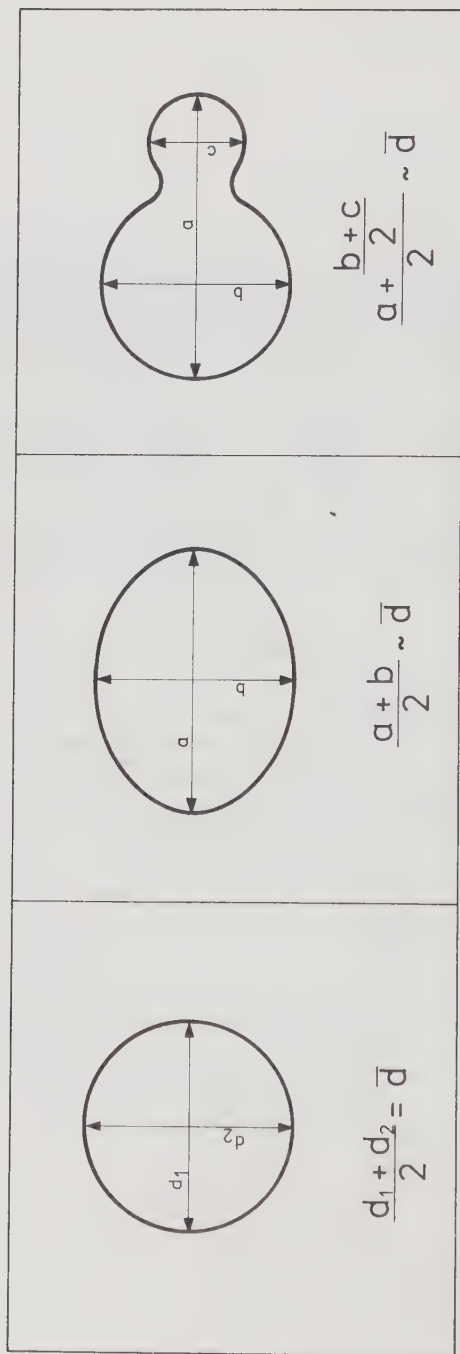


Fig.1 Schematische Darstellung der Mikrokörperformen und Formeln zur Bestimmung des mittleren Mikrokörperdurchmessers

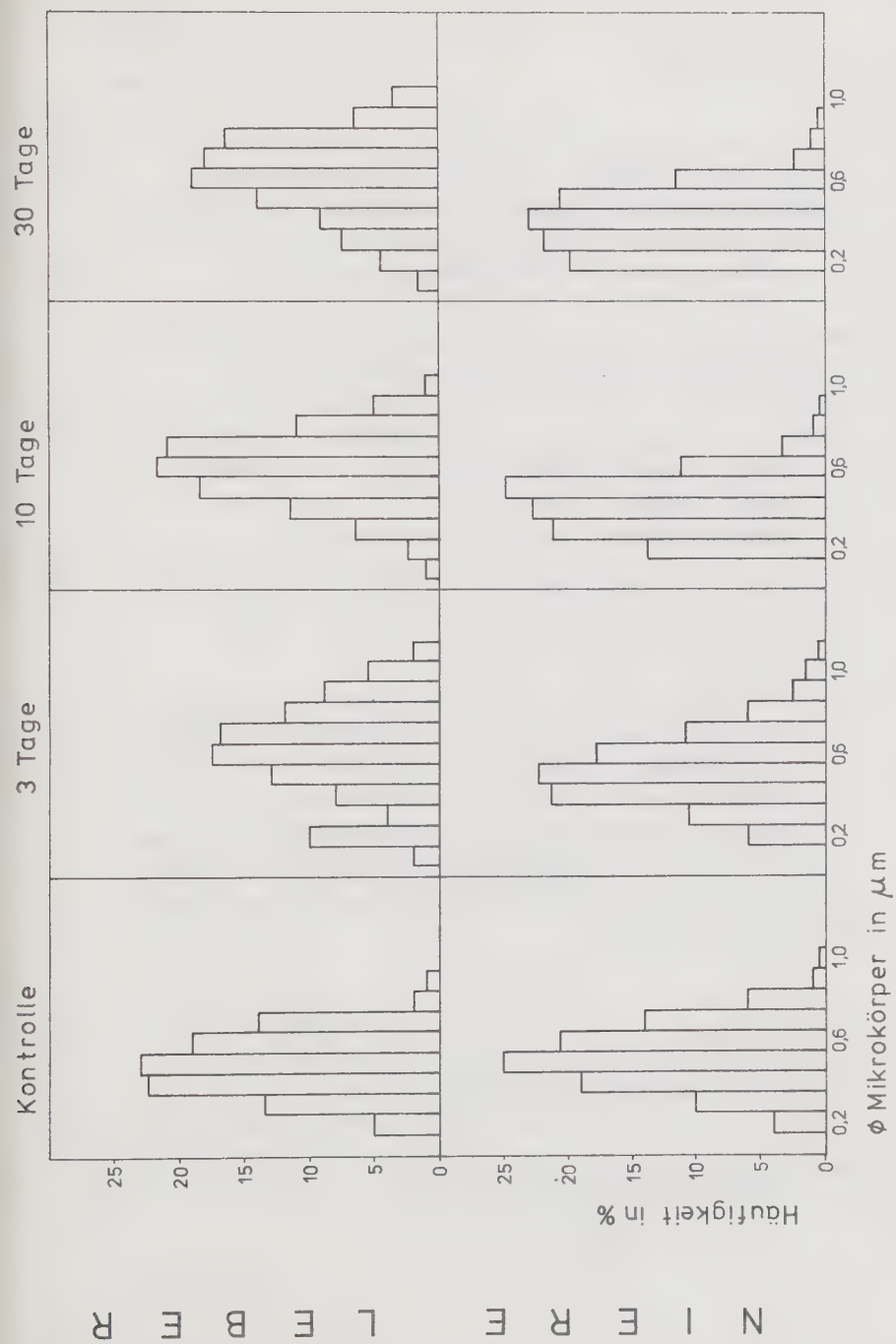


FIG.2 Prozentuale Verteilung der Mikrokörperdurchmesser in Leber und Niere (prox.Konvolut) bei Kontrollen und nach 3, 10 und 30 Tagen Clofibrat.

6. ZUSAMMENFASSUNG

An den Mikrokörpern (Mk; Microbodies, Peroxisomen) im Leber- und Nieren-Epithel von Ratten werden morphologische Veränderungen dargestellt, welche unter dem Einfluß des die Plasmalipide senkenden Pharmakons Clofibrat (Regelan[®]) nach 3, 10 und 30-tägiger Exposition (0,4 g/kg KG tgl. i.p.) zu beobachten waren. Aus den feinstrukturellen Untersuchungen, die durch metrische Bestimmungen an dem elektronenmikroskopischen Bildmaterial ergänzt wurden, werden unter Einbeziehung biochemischer Daten die folgenden Ergebnisse diskutiert:

1. In beiden Organen vermehren sich die Mk mit zunehmender Versuchsdauer.
2. Die Befunde ergeben, daß als Vermehrungsmechanismus sowohl eine Neubildung aus dem endoplasmatischen Retikulum als auch eine Teilung der Mk infrage kommt. Ersterer wird gegenüber dem zweiten als vorrangig angesehen.
3. Das Charakteristikum der Leber-Mk - das kristalline, Uratoxidase-haltige Nukleoid - schwindet mit zunehmender Clofibrateinwirkung.
4. Die Bildung des Charakteristikums der Nieren-Mk - "Stäbe" in Mk der Pars convoluta des proximalen Tubulus - wird durch Clofibrat gehemmt; vorgebildete "Stäbe" werden zu kugeligen Gebilden fragmentiert und über diesen Weg schließlich aufgelöst.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. AFZELIUS, B.A.: The occurrence and structure of microbodies. A comparative study. *J. Cell. Biol.* 26, 835-843 (1965).
2. AHLABO, J., BARNARD, T.: Observations on peroxisomes in brown adipose tissue of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 19, 670-675 (1971).
3. AZARNOFF, D.L., TUCKER, D.R.: The effects of clofibrate on liver enzymes and substrates. *Federation Proc.* 25, 388 Nut. 1121 (1965).
4. AZARNOFF, D.L., SVOBODA, D.J.: Microbodies in experimentally altered cells. VI. Thyroxine displacement from plasma proteins and clofibrate effect. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 181, 386-393 (1969).
5. BAUDHUIN, P., BEAUFAY, H., DE DUVE, C.: Combined biochemical and morphological study of particulate fractions. Analysis of preparations enriched in lysosomes or in particles containing urate oxidase, d- amino acid oxidase, and catalase. *J. Cell. Biol.* 26, 219-243 (1965).
6. BEARD, J.E., ALLEN, J.M.: A study of properties of renal microbodies of rat. *J. Exp. Zool.* 168, 477-490 (1967).
7. BEARD, M.E., NOVIKOFF, A.B.: Distribution of peroxisomes (microbodies) in the nephron of the rat. A cytochemical study. *J. Cell. Biol.* 42, 501-518 (1969).
8. BEARD, M.E.: Identification of peroxisomes in the rat adrenal cortex. *J. Histochem. Cytochem.* 20, 173-179 (1972).
9. BERRY, C., MOXHAM, A., SMITH, E., KELLIE, A.E., NABARRO, D.N.: The effects of Atromid on metabolism of adrenal steroids and on plasma lipid fractions. *J. Atherosclerosis Res.* 3, 380-427 (1963).
10. BEST, M., DUNCAN, D.: Hypolipemia and hepatomegaly from ethyl-chlorphenoxisobutyrate (CPIB) in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 64, 634-642 (1964).

11. BLACK, V.H., BORGART, B.J.: Peroxisomes in inner adrenocortical cells of fetal and adult guinea pigs. *J.Cell. Biol.* 57, 345-358 (1973).
12. BÜCK, P.: Peroxysomen im Ovar der Maus. *Z. Zellforsch.* 133, 131-140 (1972).
13. BÜCK, P.: Cytochemischer Nachweis von Katalaseaktivität in Microbodies (Peroxysomen?) von Flimmerzellen. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 141, 103-114 (1973).
14. CHANG, CHENG-HO, SCHILLER, B., GOLDFISCHER, S.: Small cytoplasmic bodies in the loop of Henle and distal convoluted tubule that resemble peroxisomes. *J. Histochem. Cytochem.* 19, 56-62 (1971).
15. CHIGA, M., REDDY, J., ŠVOBODA, D.: Degradation kinetics of livercatalase in rats treated with ethyl- α -chlorophenoxyisobutyrate. *Lab. Invest.* 25, 49-52 (1971).
16. COTKOWITZ, E., HOLTZMANN, E.: Peroxisomes in neural tissue. *J. Cell. Biol.* 55, 45 a (1972).
17. DALTON, A.J.: An electron microscopical study of a series of chemically induced hepatomas, In: *Cellular controle mechanisms and cancer*, P. Emmelot and O. Mühlbock (editors), Elsevier Publishing C., Amsterdam p. 211-225 (1964).
18. DE DUVE, D., BAUDHUIN, P.: Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol. Rev.* 46, 323-357 (1966).
19. ERICSSON, J.L.E.: Absorption and decomposition of homologous hemoglobin in renal proximal tubular cells. *Acta path. microbiol. scand., Suppl.* 168, 1-121 (1964).
20. ERICSSON, J.L.E., TRUMP, B.F., WEIBEL, J.: Electron microscopic studies of the proximal tubule of the rat kidney. II. Cytosegrosomes and cytosomes. Their relationship to each other and to the lysosome concept. *Lab. Invest.* 14, 1341-1365 (1965).

21. ERICSSON, J.L.E., TRUMP, B.F.: Electron microscopic studies of the epithelium of the proximal tubule of the rat kidney. III. Microbodies, multivesicular bodies, and the Golgi apparatus. Lab. Invest. 15, 1610-1633 (1966).
22. ESSNER, E.: Endoplasmic reticulum and the origin of microbodies in fetal mouse liver. Lab. Invest. 17, 71-87 (1967).
23. ESSNER, R.: Localization of peroxidase activity in microbodies of fetal mouse liver. J. Histochem. Cytochem. 17, 454-466 (1969).
24. FAHIMI, H.D.: Peroxidase activity of microbody catalase. J. Cell. Biol. 39, 42 a (1968).
25. FAHIMI, H.D.: Cytochemical localization of peroxidatic activity of catalase in rat hepatic microbodies (peroxisomes). J. Cell. Biol. 43, 275-288 (1969).
26. FAHIMI, H.D., VENKATACHALAM, M.A.: Microbody regeneration and catalase synthesis in rat liver. J. Cell. Biol. 47, 58 a (1970).
27. GRAHAM, R.C., Jr., KARNOVSKY, M.J.: The early stages of adsorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem. 14, 291-302 (1966).
28. HAND, A.R.: Morphologic and cytochemical identification of peroxisomes in the rat parotid and other exocrine glands. J. Histochem. Cytochem. 21, 129-136 (1973).
29. HARTMANN, H.A., BAGDON, R.E., RYZIN VAN, R.J., TOUSIMIS, A.J.: Studies of the hepatic effects of clofibrate (ethyl-chlorphenoxyisobutyrate) in rats. Toxicol. appl. Pharmacol. 14, 640-642 (1969).
30. HESS, R., STAUBLI, W., RIESS, W.: Nature of the hepatomegalic effect produced by ethyl-chlorphenoxyisobutyrate in the rat. Nature (London) 208, 856-858 (1965).

31. HIGASHI, T., PETERS, T.: Studies on rat liver catalase. II. Incorporation of ^{14}C -leucine into catalase of liver cell fractions in vivo. J. Biol.Chem. 238, 3952-3954 (1963).
32. HRUBAN, A., SWIFT, H., WISSLER, R.W.: Alterations in the fine structure of hepatocytes produced by B-3-thienylalanine. J. Ultrastruct. Res. 8, 236-250 (1963).
33. HRUBAN, Z., SWIFT, H.: Uricase : The localization in hepatic microbodies. Science 146, 1316-1318 (1964).
34. HRUBAN, Z., SWIFT, H., SLESERS, A.: Ultrastructural alterations of hepatic microbodies. Lab. Invest. 15, 1884-1901 (1966).
35. HRUBAN, Z., RECHGIGL, M., Jr.: Microbodies and related particles. Int. Rev. Cytol. Suppl. 1969
36. HRUBAN, Z., VIGIL, E.L., SLESERS, A., HOPKINS, E.: Microbodies constituent organelles of animal cells. Lab. Invest. 27, 184-191 (1972).
37. KUHN, C.: Particles resembling microbodies in normal and neoplastic perianal glands of dogs. Z. Zellforsch. 90, 554-562 (1968).
38. LANGER, K.H.: Feinstruktur der Mikrokörper (Microbodies) des proximalen Nierentubulus. Z. Zellforsch. 90, 432-446 (1968).
39. LANGER, K.H.: Strukturen und Strukturveränderungen der Mikrokörper (Microbodies) in den Segmenten des proximalen Nierentubulus. Tg.dt. Ges. f. Elektronenmikroskopie Wien (1969).
40. LEGG, P.G., WOOD, R.L.: Effects of catalase inhibitors on the ultrastructure and peroxidase activity of proliferating microbodies. Histochem. 22, 262-276 (1970 a).
41. LEGG, P.G., WOOD, R.L.: New observation on microbodies. A cytochemical study on CPIB-treated rat liver. J. Cell. Biol. 45, 118-129 (1970 b).

42. LEIGHTON, F., POOL, B., LAZAROW, P.B., DE DUVE, D.:
The synthesis and turnover of rat
liver peroxisomes. I. Fractionation
of peroxisome proteins. J. Cell.
Biol. 41, 521-535 (1969).
43. MAGALHAES, M.M., MAGALHAES, M.C.: Microbodies (peroxisomes)
in rat adrenal cortex. J. Ultrastruct.
Res. 37, 563-573 (1971).
44. MAUNSBACH, A.B.: Observations on the ultrastructure
and acid phosphatase activity of the
cytoplasmic bodies in rat kidney proximal
tubule cells. With a comment on their
classification. J. Ultrastruct. Res.
16, 197-238 (1966).
45. MOVAT, H.Z.: Silver impregnation methods for
electron microscopy. Am.J.Clin. Path.
35, 528-537 (1961).
46. NOVIKOFF, A.B., SHIN, W.Y.: The endoplasmic reticulum in
the Golgi zone and its relationship
to microbodies, Golgi apparatus and
autophagic vacuoles in rat liver cells.
J. Micro. 3, 187-206 (1964).
47. NOVIKOFF, A.B., GOLDFISCHER, S.: Visualization of peroxi-
somes (microbodies) and mitochondria
with diaminobenzidine,
J. Histochem. Cytochem. 17, 675-685
(1969).
48. NOVIKOFF, P.M., NOVIKOFF, A.B.: Peroxisomes in absorptive
cells of mammalian small intestine.
J. Cell. Biol. 53, 532-560 (1972 a).
49. NOVIKOFF, A.B., NOVIKOFF, P.M., DAVIS, C., QUINTANA, N.:
Studies on microperoxisomes. II.
A cytochemical method for light and
electron microscopy. J. Histochem.
Cytochem. 20, 1006-1023 (1972 b).
50. NOVIKOFF, P.M., NOVIKOFF, A.B., QUINTANA, N., DAVIS, C.:
Studies on microperoxisomes. III.
Observations on human and rat
hepatocytes. J. Histochem. Cytochem.
21, 540-558 (1973).

51. PLATT, D.S., THORP, J.M.: Changes in the weight and composition of the liver in the rat, dog and monkey treated with ethyl-chlorphenoxyisobutyrate. *Biochem. Pharmac.* 15, 915-925 (1966).
52. PLATT, D.S., COCKRILL, B.L.: Changes in the liver concentration of nicotinamide adenine dinucleotide coenzymes and in the activities of oxidoreductase enzymes following treatment of the rat with ethyl-chlorphenoxyisobutyrate (Atromid-S). *Biochem. Pharmacol.* 15, 927-935 (1966).
53. POOL, B., LEIGHTON, F., DE DUVE, C.: The synthesis and turnover of rat liver peroxisomes. II. Turnover of peroxisome proteins. *J. Cell. Biol.* 41, 536-546 (1970 a).
54. POOL, B., HIGASHI, T., DE DUVE, D.: The synthesis and turnover of rat liver peroxisomes. III. The size distribution of peroxisomes and the incorporation of new catalase. *J. Cell. Biol.* 45, 408-415 (1970 b).
55. REDDY, J., BUNYARATVEJ, S., SVOBODA, D.: Microbodies in experimentally altered cells. IV. Acatalasmic (Cs^b) mice treated with CPIB. *J. Cell. Biol.* 42, 587-596 (1969 a).
56. REDDY, J., BUNYARATVEJ, S., SVOBODA, D.: Microbodies in experimentally altered cells. V. Histochemical and cytochemical studies on the livers of rats and acatalasmic mice treated with CPIB. *Am. J. Path.* 50, 351-370 (1969 b).
57. REDDY, J., CHIGA, M., BUNYARATVEJ, S., SVOBODA, D.: Microbodies in experimentally altered cells. VII. CPIB-induced hepatic microbody proliferation in the absence of significant catalase synthesis. *J. Cell. Biol.* 44, 226-234 (1970).
58. REDDY, J., CHIGA, M., SVOBODA, D.: Stimulation of liver catalase synthesis in rats by ethyl- α -chlorphenoxyisobutyrate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 318-324 (1971 a).

59. REDDY, J., M.D., SVOBODA, D.: Microbodies in experimentally altered cells. VIII. Continuities between microbodies and their possible biologic significance. Lab. Invest. 24, 74-81 (1971).
60. REDDY, J., SVOBODA, D.: Microbodies in Leydig cell tumors of rat testis. J. Histochem. Cytochem. 20, 793-803 (1972).
61. REDDY, J., SVOBODA, A.: Further evidence to suggest that microbodies do not exist as individual entities. Am. J. Path. 70, 421-438 (1973 a).
62. REDDY, J., SVOBODA, D.: Microbody (peroxisomes) matrix: transformation in tubular structures. Virchows Arch. 14, 83-92 (1973 b).
63. REDDY, J., SVOBODA, D., AZARNOFF, D., DAWAR, R.: Cadmium-induced Leydig cell tumors of rat testis: Morphological and cytochemical study. J. nat. Cancer. Inst. 51, 891-903 (1973).
64. REYNOLDS, E.S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208-213 (1963).
65. RHODIN, J.: Correlation of ultrastructural organisation and function in normal and experimentally controlled changes of proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Thesis Stockholm (1954).
66. RIGATUSO, J.L., LEGG, P.G., WOOD, R.L.: Microbody formation in regenerating rat liver. J. Histochem. Cytochem. 18, 893-900 (1970).
67. ROULLIER, C., BERNHARD, W.: "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, Suppl., 355-360 (1956).
68. SHNITKA, T.K.: Comparative ultrastructure of hepatic microbodies in some mammals and birds in relation to species differences in uricase activity. J. Ultrastruct. Res. 16, 598-625 (1966).

69. STAUBLI, W., HESS, R.: Quantitative aspects of hepatomegaly induced by ethyl-chlorphenoxyisobutyrate (CPIB). In "Electron Microscopy" (Ryozi Uyeda, ed.), Vol. II pp. 625-626. Maruzen Co., Tokyo (1966).
70. SVOBODA, D.J., AZARNOFF, D.L.: Response of hepatic microbodies to a hypolipidemic agent, ethyl-chlorphenoxyisobutyrate (CPIB). J. Cell. Biol. 30, 442, 450 (1966).
71. SVOBODA, D., AZARNOFF, D.L.: Peroxisomes (microbodies) in experimentally altered cells. Am. J. Path. 50, 53 a (1967).
72. SVOBODA, D.J., GRADY, H., AZARNOFF, D.L.: Microbodies in experimentally altered cells. J. Cell. Biol. 35, 127-152 (1967).
73. SVOBODA, D., AZARNOFF, D., REDDY, J.: Microbodies in experimentally altered cells. II. The relationship of microbody proliferation to endocrine glands. J. Cell. Biol. 40, 734-746 (1969).
74. THOENES, W., LANGER, K.H.: Die Endocytose-Phase der Eiweißresorption im proximalen Nierentubulus. Untersuchung am Feritinresorbierenden Einzeltubulus der Rattenniere. Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 2, 361-379 (1969).
75. TISHER, C.C., BULGER, R.E., TRUMP, B.F.: Human renal ultrastructure. I. Proximal tubule of healthy individuals. Lab. Invest. 15, 1357-1394 (1966).
76. TSUKADA, H., MOCHIZUKI, Y., FUZIWARA, S.: The nucleoids of rat liver cell microbodies, fine structure and enzymes. J. Cell. Biol. 28, 449-460 (1966).
77. TSUKADA, H., MOCHIZUKI, Y., KONISHI, T.: Morphogenesis and development of microbodies of hepatocytes of rat during pre- and post-natal growth. J. Cell. Biol. 37, 231-243 (1968).
78. WATSON, M.L.: Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cyt. 4, 475-478 (1958).

79. WOOD, R.L.: Studies on the origin of microbodies in embryonic liver. Anat. Rec. 163, 287 (1969).
80. WOOD, R.L., LEGG, P.G.: Peroxidase activity in rat liver microbodies after amino-triazole inhibition. J. Cell. Biol. 45, 576-585 (1970).

Herrn Prof. Dr. med. Karl-Heinz Langer danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas, seine zahlreichen Anregungen und die stets freundliche und ermutigende Hilfe bei der Fertigstellung der Arbeit und für die Übernahme des Referats.

Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Thoenes danke ich für sein förderndes Interesse und sein großes Entgegenkommen, die er mir als Leiter des Instituts für Cytobiologie und Cytopathologie der Universität Marburg während meiner Tätigkeit dort stets erwies, und für die Übernahme des Korreferats.

Allen Mitarbeitern des Instituts danke ich für ihre wertvolle Hilfe, insbesondere Fräulein Tschertner für die technischen und Herrn Kramer für die fotografischen Arbeiten.

LEBENS LAUF

Am 20. Mai 1948 wurde ich als zweites Kind des praktischen Arztes Dr. med. Helmut Kalina und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Schwarzer, in Uthlede, Kreis Wesermünde, geboren. Dort wurde ich 1954 eingeschult. - Im Herbst 1957 verlegte mein Vater seinen Arztstuhl nach Schwanewede, Kreis Osterholz. - Dort beendete ich nach einem halben Jahr meine Grundschulausbildung. Von 1958 an besuchte ich das Gerhard-Rohlf's-Gymnasium, Bremen-Vegesack, von 1959 bis 1965 das Gymnasium in Hagen. Von dort wechselte ich auf das Gymnasium Lesum in Bremen-Lesum, wo ich am 22. Juni 1967 die Reifeprüfung ablegte.

Im Herbst desselben Jahres immatrikulierte ich mich an der Philipps-Universität Marburg in der Naturwissenschaftlichen Fakultät. Nach einer Aufnahmeprüfung für das Fach Medizin im Frühjahr 1968 und einem weiteren Semester legte ich am 30. September 1968 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Am 20. März 1970 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 26. Juli 1973 die ärztliche Prüfung.

Meine Medizinalassistentenzeit begann ich am 1. Oktober 1973 am Institut für Cytopathologie und Cytopathologie der Universität Marburg, wo ich mich elektronenmikroskopischen Untersuchungen widmete. Meine weitere Ausbildung erfolgte auf der inneren Abteilung des Knappschaftskrankenhauses in Bottrop und an der Chirurgischen Klinik des Zentralkrankenhauses in Bremen-Nord.

Nach Erhalt der Approbation am 14. Januar 1975 arbeitete ich als Assistent bis zum 31. April 1975 an der Chirurgischen Klinik und bin seit dem 1. Mai 1975 Assistent der Inneren Klinik desselben Krankenhauses.

Am 31. Juli 1970 heiratete ich meine Kollegin Gisela Kalina, geb. Bracke.

